



# بررسی اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر علائم رفتاری بیماری پارکینسون درمدل حیوانی ۶- هیدروکسی دوپامین-آزمون چرخش القا شده با آپومورفین

## Study of the effect of long- term treatment with hydrogen sulfide on the ۶-hydroxydopamine induced Parkinson's disease in the rat- Apomorphine induced rotation test



علوم پزشکی  
قزوین



منابع



اطلاعات  
تفضیلی



مجری و  
همکاران



صفحه نخست  
سامانه

چاپ  
صفحه

مجریان: هاشم حق دوست یزدی

کلمات کلیدی: هیدروژن سولفاید - بیماری پارکینسون - ۶- هیدروکسی دوپامین  
- چرخش القا شده با آپومورفین



اطلاعات کلی طرح

کد طرح	۱۴۰۰۲۳۱۴
عنوان فارسی طرح	بررسی اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر علائم رفتاری بیماری پارکینسون درمدل حیوانی ۶- هیدروکسی دوپامین-آزمون چرخش القا شده با آپومورفین
عنوان لاتین طرح	Study of the effect of long- term treatment with hydrogen sulfide on the ۶-hydroxydopamine induced Parkinson's disease in the rat- Apomorphine induced rotation test
کلمات کلیدی	هیدروژن سولفاید - بیماری پارکینسون - ۶- هیدروکسی دوپامین - چرخش القا شده با آپومورفین
نوع طرح	
نوع مطالعه	
مدت اجراء - روز	۶۶۰
ضرورت انجام تحقیق	بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو می باشد که پس از الزایمر شایع ترین اختلال نورودژنراتیو مرتبط با سن می باشد. این بیماری بوسیله از دست رفتن نورونهای دپامینرژیک مغز

میانی و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. علائم این بیماری شامل برادی کینزیا، رژیڈیتی، صورت ماسکی شکل، اختلال در راه رفتن و کنترل وضعیت بدن می باشد. درمان با داروی لودپا (L-Dopa) کمبود دپامین در استریاتوم مغز و بدنال آن بسیاری از علائم بیماری را برطرف می کند. لکن این دارو نمی تواند جلو مرگ نوروں های دپامینرژیک و پیشرفت بیماری را بگیرد و درمان طولانی مدت با آن سبب تسریع مرگ نوروں های دپامینرژیک شده که منجر به عوارضی همچون دیس کینزیا می شود که سبب کاهش کیفیت زندگی می گردد. لذا درحال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش های نوین جلوگیری از مرگ نوروں های دپامینرژیک و کند کردن پیشرفت بیماری می باشد. هیدروژن سولفاید ( $H_2S$ ) یک نوروترانسمیتر گازی درون زاد میباشد که از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نوروں ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) و افزایش سطح کلسیم در میکروگلیا ها می شود. نقشی برای این ماده در بیماری های نورودژنراتیو گزارش شده است

هدف کلی تعیین اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفید بر شدت علائم رفتاری در بیماری پارکینسون در مدل حیوانی

خلاصه روش کار روش انجام این تحقیق شامل: ۱. جراحی استرئوتاکسیک و تزریق سم ۶- هیدروکسی دوپامین به ناحیه دسته مغز جلویی میانی ۲. درمان با هیدروژن سولفاید fw,vj تزریق درون صفاقی تنها یا همراه با گلی بن کلامید ۳. انجام آزمون چرخش القاء شده به وسیله اپومرفین بصورت تزریق داخل صفاقی آپومورفین و شمردن تعداد چرخش های موش در خلاف جهت تزریق سم در عرض ساعت که بیانگر شدت بیماری است.



## اطلاعات مجری و همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	درجه تحصیلی	پست الکترونیک
هاشم حق دوست یزدی	استاد راهنمای اول		دکتر - PHD	hhaghdooost@yahoo.com
محمد صوفی آبادی	استاد مشاور		دکترای تخصصی	mohasofi@yahoo.com



## اطلاعات تفصیلی

عنوان	متن
چکیده طرح	
پیشینه طرح	
فهرست کلی فصول	
هدف از اجرا	تعیین اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفید بر شدت علائم رفتاری در بیماری پارکینسون در مدل حیوانی
فرضیات یا سوالات پژوهشی	۱. درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفید سبب کاهش تعداد چرخش های القاء شده با اپومرفین در موش های دریافت کننده سم ۶-OHDA می شود. ۲. اثر هیدروژن سولفید وابسته به دوز بوده و دوز ۱۰۰ $\mu\text{mol/kg}$ , body weight آن در کاهش علائم رفتاری و موثرتر از دوز ۵۰ $\mu\text{mol/kg}$ , body weight آن می باشد.
چه موسساتی می توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟	
در صورت ساخت دستگاه نظر صنعت و داوران	

## روش پژوهش و تکنیک های اجرایی

روش انجام این تحقیق شامل: ۱- جراحی استرئوتاکیک و تزریق سم ۶- هیدروکسی دوپامین ۲- درمان با هیدروژن سولفاید تنها یا همراه با گلی بن کلامید ۳- انجام از مون های رفتاری ۱. جراحی استرئوتاکیک و تزریق سم ۶-OHDA: سم نوروتوکسیک ۶-۱۰-۱۵ (OHDA میکروگرم حل شده در سالین حاوی ۲٪ درصد اسید اسکوربیک) به وسیله جراحی استرئوتاکیک به ناحیه دسته مغز جلویی میانی (MFB) تزریق می گردد. در این جراحی ابتدا حیوانات را با استفاده از کتامین/ زایلانین (۶/۶۰ mg/kg) بیهوش کرده و سپس در دستگاه استرئوتاکیس قرار داده می شوند. در پوست سر یک برش طولی به اندازه ۲ سانتیمتر ایجاد شده و سطح استخوان اشکار می شود. سپس نقطه برگما مشخص شده و با استفاده از دستگاه استرئوتاکیس و به کمک اطلس پاکسینوز و واتسون ۱۳ محل مورد نظر تزریق نشانه گذاری می گردد. سپس سطح جمجمه با مته دندانپزشکی سوراخ گردیده و با استفاده از سرنگ هامیلتون تزریق سم ۶-OHDA به درون ناحیه مورد نظر به اهستگی صورت می گیرد. سم ۶-OHDA سبب تخریب نورون های دپامینرژیک در جسم سیاه طرف تزریق شده و مدل پارکینسونی را ایجاد می نماید. ۲. درمان با هیدروژن سولفاید و یا سالین: تزریق بصورت درون صفاقی به گروه های مربوطه صورت خواهد گرفت. این تزریقات بصورت روزانه از ساعتی قبل از تزریق سم ۶-OHDA شروع خواهد شد و تا ۷ روز پس از آن ادامه خواهد یافت. ۳. آزمون های رفتاری: تزریق سم سبب تخریب نورون های دپامینرژیک جسم سیاه در همان طرف می گردد. علائم پارکینسون و شدت بیماری به وسیله ۳ آزمون رفتاری چرخش القا شده به وسیله آپومورفین، آزمون پیچش بدن بالارفته و روتارود اشکار می گردد. که این طرح به بررسی آزمون چرخش القا شده به وسیله آپومورفین خواهد پرداخت. آزمون چرخش القا شده به وسیله آپومورفین: در قبال تزریق آپومورفین (۰.۵ mg/kg, I.P) موش ها چرخش هایی را در خلاف جهت محل تزریق نشان می دهند. تعداد این چرخشها در عرض یک ساعت نشان دهنده شدت بیماری می باشد. در این تحقیق تعداد چرخش بیش از ۳۰ چرخش در یک ساعت نشان دهنده بروز بیماری پارکینسون می باشد. آزمون های چرخشی و پیچشی در هفته های سوم و پنجم پس از تزریق سم انجام خواهد شد.

## دلایل ضرورت و توجیه انجام کار

بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو می باشد که پس از الزایمر شایع ترین اختلال نورودژنراتیو مرتبط با سن می باشد. این بیماری بوسیله از دست رفتن نورونهای دپامینرژیک مغز میانی و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. علائم این بیماری شامل برادی کینزیا، رژیدیتی، صورت ماسکی شکل، اختلال در راه رفتن و کنترل وضعیت بدن می باشد. درمان با داروی لودپا (L-Dopa) کمبود دپامین در استریاتوم مغز و بدنال آن بسیاری از علائم بیماری را برطرف می کند. لکن این دارو نمی تواند جلو مرگ نورون های دپامینرژیک و پیشرفت بیماری را بگیرد و درمان طولانی مدت با آن سبب تسریع مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر استرس اکسیداتیو می شود که منجر به بروز عوارض مخربی همچون دیس کینزیا می شود که سبب پایین آمدن کیفیت زندگی می گردد. از این رو درحال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش های نوین برای جلوگیری از مرگ نورون های دپامینرژیک و کند کردن پیشرفت بیماری می باشد. هیدروژن سولفاید ( $H_2S$ ) یک نوروترانسمیتر گازی درون زاد میباشد که اعمال فیزیولوژیک مهمی برای آن در CNS پیشنهاد شده است. این ماده از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نورون ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) شده، امواج کلسیمی در استروسیست ها ایجاد کرده و منجر به افزایش سطح کلسیم در میکروگلیا ها می شود. نقشی برای این ماده در بیماری های نورودژنراتیو نیز گزارش شده است. نشان داده شده

است که  $H_2S$  التهاب عصبی القاء شده بوسیله لیپوپولی ساکاریدها و امیلوئید  
بتا را مهار می کند .

کلید واژه های فارسی بازنگری شده	
فهرست منابع و مراجع علمی داخلی	
فهرست منابع و مراجع علمی خارجی	
خلاصه نتیجه اجرای طرح	
سابقه علمی طرح و پژوهش های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران	
خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده	
WhatRequirementsAreMet	
ملاحظات گروه	
ملاحظات ناظر	
HomeAddress	
WorkPlace	
جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری	جامعه مورد مطالعه موشهای صحرایی نر از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم می باشند. که سم ۶- هیدروکسی دوپامین را برای ایجاد مدل پارکینسونی دریافت می دارند.
بیان مسأله و بررسی متون	بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو می باشد که پس از الزایمر شایع ترین اختلال نورودژنراتیو مرتبط با سن می باشد. این بیماری بوسیله از دست رفتن نورونهای دپامینرژیک مغز میانی و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون به خوبی شناسایی نشده است لکن مشخص گردیده است که استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری ها نقش مهمی در آن ایفا می کنند. مطالعات صورت گرفته بر روی مدل های حیوانی نشان می دهند که اختلال در عملکرد کمپلکس I در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریها از عوامل مهم ایجاد این بیماری می باشد. در فرایند انتقال الکترون در میتوکندریها اکسیدانت های قوی مانند رادیکالهای سوپراکسید و هیدروژن پراکسید به عنوان محصولات فرعی تولید می شوند. مهار کمپلکس I سبب افزایش تولید سوپراکسید و رادیکالهای آزاد اکسیژن (ROS) می گردد. رادیکالهای آزاد با هدف قرار دادن خود زنجیره انتقال الکترون منجر به آسیب میتوکندریایی بیشتر و تولید بیشتر ROS می گردند. نورون های دپامینرژیک بویژه مستعد تولید ROS می باشند زیرا متابولیسم دپامین تولید هیدروژن پراکسید و رادیکالهای سوپراکسید می نماید. علائم این بیماری شامل برادی کینزیا، رژیذیتی، صورت ماسکی شکل، اختلال در راه رفتن و کنترل وضعیت بدن می باشد. درمان با داروی لودپا (L-Dopa) کمبود دپامین در استریاتوم مغز و بدنبال آن بسیاری از علائم بیماری را برطرف می کند. لکن این دارو نمی تواند جلو مرگ نورون های دپامینرژیک و پیشرفت بیماری را بگیرد و درمان طولانی مدت با آن سبب تسریع مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر استرس اکسیداتیو می شود که منجر به بروز عوارض مخربی همچون دیس کینزیا می شود که سبب پایین آمدن کیفیت زندگی می گردد. از این رو درحال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش های نوین برای جلوگیری از مرگ نورون های دپامینرژیک و کند کردن پیشرفت بیماری می باشد. ۴-۱ هیدروژن سولفاید ( $H_2S$ ) یک نوروترانسمیتر گازی cystathionine b- در پستانداران بوسیله دوانزیم synthase و cystathionine c-lyase تولید می شود. نشان داده شده است که این ماده قلب را در برابر آسیب ایسکمیک محافظت کرده،

تون عروقی و آزاد شدن انسولین را تنظیم می کند و تکثیر سلولی و اپوپتوز را تعدیل می نماید ۵. همچنین اعمال فیزیولوژیک مهمی برای آن در CNS پیشنهاد شده است. این ماده از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نورون ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) شده، امواج کلسیمی در استروسیت ها ایجاد کرده و منجر به افزایش سطح کلسیم در میکروگلیا ها می شود. نقشی برای این ماده در بیماری های نورودژنراتیو نیز گزارش شده است. نشان داده شده است که  $H_2S$  التهاب عصبی القاء شده بوسیله لیپوپلی ساکاریدها و امیلوئید بتا را مهار می کند ۶ و ۷. کیمورا و کیمورا در سال ۲۰۰۴ گزارش دادند که گاز  $H_2S$  نورون ها را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می کند ۸. کامات و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که گاز  $H_2S$  نورودژنراسیون و اختلالات نوروواسکولار القاء شده بوسیله تجویز درون مغزی هموسیستئین در مغز موش های سوری را کاهش میدهد ۹. در مطالعه ای دیگر لو و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که تزریق سیستمیک NaHS (دهنده  $H_2S$ ) مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر تجویز سم MPTP (۱-methyl-۴-phenylpyridinium) را در موش های سوری کاهش می دهد ۵. در همین ارتباط کیدا و همکاران ۲۰۱۱ گزارش کردند که تنفس سولفید هیدروژن از مرگ نورون های دپامینرژیک و اختلالات حرکتی بر اثر تجویز سم MPTP جلوگیری می کند ۱۰. در مطالعه ای که توسط Hu و همکاران در سال های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۳ انجام گرفت مشخص گردید که تزریق سیستمیک NaHS و یا ترکیب  $ACS_{84}$  (ترکیبی مشتق از آل دوبا که سبب آزاد سازی هیدروژن سولفاید میشود) از ایجاد بیماری پارکینسون القاء شده توسط روتنون جلوگیری کرده و سلول های رده SH-SY5Y را در برابر آسیب ناشی از تزریق OHDA-۶ و استرس اکسیداتیو محافظت می کند. همچنین این محققین نشان دادند که تجویز این دو ماده به موش های پارکینسونی شده توسط سم OHDA-۶ سبب معکوس شدن اختلالات حرکتی و مرگ نورون های دپامینرژیک می شود ۶ و ۷. در پژوهشی که اخیرا گروه تحقیقاتی نگارنده به انجام رسانده است مشخص گردید که تزریق سیستمیک NaHS می تواند اثرات ضد پارکینسونی در مدل حیوانی داشته باشد. لکن در این تحقیق ما تنها ۷ روز NaHS تزریق کردیم زیرا بر اساس متون تصور می شد که مرگ نورون های دپامینرژیک در عرض چند روز پس از تزریق سم بدرون ناحیه MFB رخ می دهد. لکن پس از آزمون های رفتاری متوجه شدیم که شدت علائم پارکینسونیسم در هفته پنجم پس از تزریق سم به میزان کاملا معنی داری شدیدتر از این علائم در هفته سوم می باشد. لذا به نظر می رسد که اثر سم و مرگ نورون های دپامینرژیک ممکن است تا چند هفته پس از تزریق سم ادامه داشته باشد. لذا در این تحقیق مدت درمان با NaHS را تا ۵ هفته پس از تزریق سم ادامه خواهیم داد.



#### منابع

- 1-Dauer W, Przedborski S. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. Neuron 2003; 39: 889-909
- 2-Przedborski S. Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's disease. Parkinsonism and Related Disorders 2005; 11: S3-S7
- 3-Tsang A.H.K and Chung K.K.K. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. Biochimica et Biophysica Acta 2009; 1792: 643-650
- 4-Wang XJ, Xu JX. Possible involvement of  $Ca^{2+}$  signaling in rotenone-induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Neurosci Lett, 2005; 376:127-132

- Lu M, Zhao FF, Tang JJ, Su CJ, Fan Y, Ding JH, Bian JS, Hu G. The -5 neuroprotection of hydrogen sulfide against MPTP-induced dopaminergic neuron degeneration involves uncoupling protein 2 rather than ATP-sensitive potassium channels. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Sep .15;17(6):849-59. doi: 10.1089/ars.2011.4507. Epub 2012 Apr 20
- Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS. Neuroprotective -6 effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell*. 2010 Apr;9(2):135-46. doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00543.x. Epub 2009 .Dec 23
- Xie L, Hu LF, Teo XQ, Tiong CX, Tazzari V, Sparatore A, Del Soldato P, -7 Dawe GS, Bian JS. Therapeutic effect of hydrogen sulfide-releasing L-Dopa derivative ACS84 on 6-OHDA-induced Parkinson's disease rat model. *PLoS One*. 2013;8(4):e60200. doi: 10.1371/journal.pone.0060200. Epub 2013 Apr 3
- Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative -8 stress. *FASEB J*. 2004 Jul;18(10):1165-7. Epub 2004 May 20
- Kamat PK1, Kalani A, Givvimani S, Sathnur PB, Tyagi SC, Tyagi N. -9 Hydrogen sulfide attenuates neurodegeneration and neurovascular dysfunction induced by intracerebral-administered homocysteine in mice. *Neuroscience*. 2013 Nov 12;252:302-19. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.07.051. Epub 2013 Jul 31
- Kida K1, Yamada M, Tokuda K, Marutani E, Kakinohana M, Kaneki M, -10 Ichinose F. Inhaled hydrogen sulfide prevents neurodegeneration and movement disorder in a mouse model of Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Jul 15;15(2):343-52. doi: 10.1089/ars.2010.3671. Epub 2011 Apr 5
- Fujita K, Yamafuji M, Nakabeppu Y, Noda M. Therapeutic approach to -11 neurodegenerative diseases by medical gases: focusing on redox signaling and related antioxidant enzymes. *Oxid Med Cell Longev*. 2012 .:324256
- Zhou CF, Tang XQ. Hydrogen sulfide and nervous system regulation. -12 *Chin Med J (Engl)*. 2011, 124 (21):3576-82. Review
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. -13 .San Diego, CA: Academic Press; 2007
- Borlongan CV, Sanberg PR. Elevated Body Swing Test: A New -14 Behavioral Parameter for Rats with 6-Hydroxydopamine-Induced Hemiparkinsonism. *J Neuroscience* 1995, 15(7): 5372-5378
- Hamm RJ, Pike BR, O'Dell DM, Lyeth BG, Jenkins LW. The rotarod -15 test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 1994 Apr;11(2):187-96
- Andereggen L, Meyer M, Guzman R, Ducray A.D, Widmer H.R. -16 Effects of GDNF pretreatment on function and survival of transplanted fetal ventral mesencephalic cells in the 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *B R A I N R E S E A R C H* 1 2 7 6 ( 2 0 0 9 ) 3 9 – 4 9
- Roghani M, Behzadi G. Neuroprotective effect of vitamin E on the -17 early model of Parkinson's disease in rat: behavioral and histochemical evidence. *Brain Res*. 2001 Feb 16;892(1):211-7